

20. 7. 2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 7 月 1 5 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 1 9 7 2 2 9
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 1 9 7 2 2 9]

REC'D 10 SEP 2004

WIPO

PCT

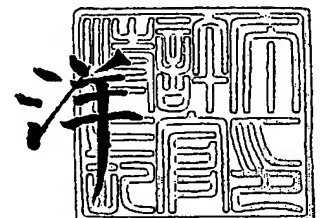
出 願 人
Applicant(s): 独立行政法人理化学研究所
 学校法人中部大学

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 8 月 2 6 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願

【整理番号】 P-B1178

【提出日】 平成15年 7月15日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A61K 31/35 ADD

【発明の名称】 高カルシウム血症および骨疾患治療剤

【請求項の数】 4

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 理化学研究所内

【氏名】 長田 裕之

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 理化学研究所内

【氏名】 町田 清隆

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 理化学研究所内

【氏名】 清水 猛

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 理化学研究所内

【氏名】 中田 忠

【発明者】

【住所又は居所】 東京都品川区旗の台 1-5-8

【氏名】 新木 敏正

【発明者】

【住所又は居所】 愛知県春日井市松本町 1200 学校法人三浦学園 中部大学内

【氏名】 禹 済泰

【発明者】

【住所又は居所】 愛知県春日井市松本町1200 学校法人三浦学園 中部大学内

【氏名】 永井 和夫

【特許出願人】

【識別番号】 000006792

【氏名又は名称】 理化学研究所

【特許出願人】

【識別番号】 500433225

【氏名又は名称】 学校法人三浦学園

【代理人】

【識別番号】 100100549

【弁理士】

【氏名又は名称】 川口 嘉之

【選任した代理人】

【識別番号】 100090516

【弁理士】

【氏名又は名称】 松倉 秀実

【選任した代理人】

【識別番号】 100089244

【弁理士】

【氏名又は名称】 遠山 勉

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 192372

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

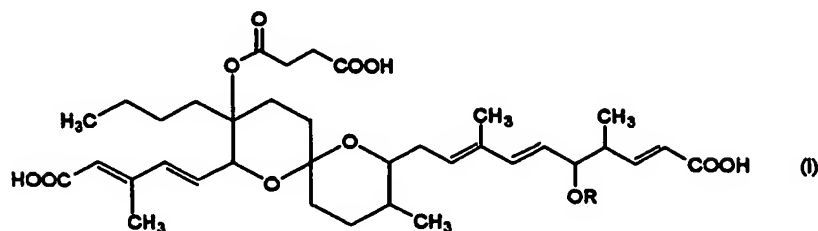
【書類名】 明細書

【発明の名称】 高カルシウム血症および骨疾患治療剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下記一般式 (I)

【化 1】



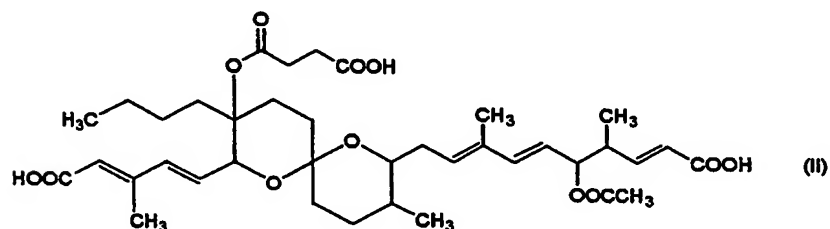
(式中、R は酸性条件下で脱離し得る水酸基の保護基を示す。)

で表されるリベロマイシン A 誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とする高カルシウム血症または骨疾患治療剤。

【請求項 2】 一般式 (I) において、R が tert-ブチルジメチルシリル基である請求項 1 に記載の治療剤。

【請求項 3】 下記一般式 (II)

【化 2】



で示されるリベロマイシン A 誘導体またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 4】 請求項 3 に記載のリベロマイシン A 誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とする高カルシウム血症または骨疾患治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、新規な高カルシウム血症および骨疾患治療剤に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

骨の量と機能は、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収（骨破壊）のバランスによって維持されている。高齢化社会の中で患者数が急速に増加しつつある骨粗鬆症は、活性化した成熟破骨細胞による過剰な骨吸収により骨代謝のバランスが破綻し、骨量が減少する疾患である。

【0 0 0 3】

骨粗鬆症の治療薬としての骨吸収抑制剤としては、現在のところ女性ホルモンであるエストロゲンなどがあり、治療方法としてはこれを直接投与する方法があるが、この方法は重篤な副作用を引き起こすことが欠点である。また、エストロゲンは甲状腺ホルモンであるカルシトニンの分泌を促進することにより骨吸収を抑制すると考えられており、カルシトニンなどのペプチドホルモン製剤なども骨吸収抑制剤として使用されている。しかしながら、ペプチドホルモン製剤は、その骨吸収抑制効果の持続性が短いことや、アレルギーなどの過敏性体質の患者には使用しにくいなどの欠点がある。従って、これらに代わる新たな骨疾患治療剤の開発が望まれている。

【0 0 0 4】

骨吸収の要因である破骨細胞の働きを直接抑制できる非ホルモン系の薬剤は、副作用の少ない臨床薬として期待できる。非ホルモン系の骨疾患治療剤としては、リベロマイシン類を有効成分とする骨疾患治療剤が知られている（特許文献1を参照）。しかしながら、さらなる骨疾患治療剤の開発が望まれている。

【0 0 0 5】

上述のとおり、生体内において、骨密度が減少する骨疾患の原因は破骨細胞による過剰の骨吸収による。生体内において、例えば、副甲状腺ホルモン（Parathyroid Hormone：PTH）は、破骨細胞の分化を促進するとともに成熟破骨細胞の活性化を誘導する。従って、副甲状腺ホルモンが作用する破骨細胞に作用する薬剤、例えば、骨吸収の働きを担う破骨細胞の形成を抑制する薬剤、あるいは破骨細胞の機能を阻害する薬剤などの開発は、骨粗鬆症などの骨疾患の治療剤、またさらに高カルシウム血症などの治療剤としての臨床応用が大いに期待される。

【0006】

【特許文献1】

特開平7-223945号

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、上記の希求に応えるものであり、新規な高カルシウム血症および骨疾患治療剤、該治療剤の有効成分として用いられ得る新規化合物の提供を課題とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】

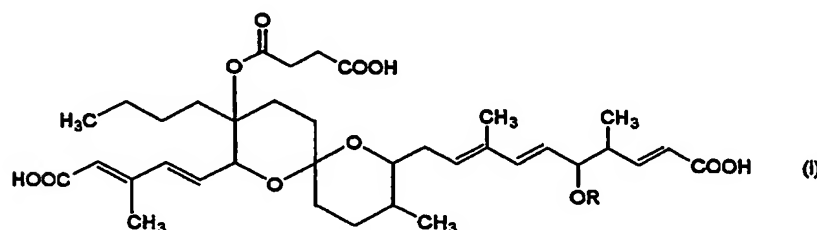
本発明者は、上記課題の解決のために鋭意検討した結果、天然化合物リベロマイシンAの特定の誘導体、およびリベロマイシンAを基に新たに開発されたりベロマイシンA誘導体が、成熟破骨細胞に選択的な細胞死を誘導することによって骨吸収作用を抑制する事実を新たに見いだした。また、これらのリベロマイシンA誘導体が、生体内において最も重要な骨吸収システムである副甲状腺ホルモン依存的骨吸収を効果的に抑制できる事実を新たに見いだした。このような知見から、これらのリベロマイシンA誘導体を高カルシウム血症および骨疾患治療剤として使用できることを見出し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明の要旨は以下のとおりである。

(1) 下記一般式 (I)

【0009】

【化3】



【0010】

(式中、Rは酸性条件下で脱離し得る水酸基の保護基を示す。)

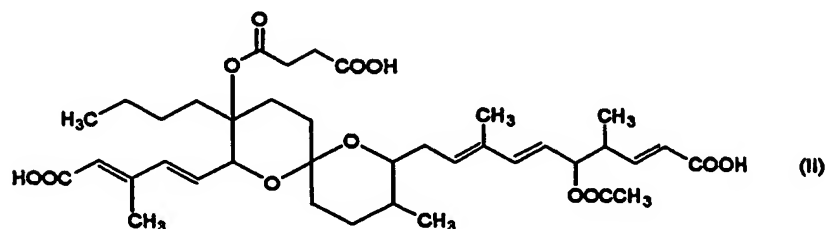
で表されるリペロマイシン A 誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とする高カルシウム血症または骨疾患治療剤。

(2) 一般式 (I) において、R が tert-ブチルジメチルシリル基である (1) に記載の治療剤。

(3) 下記一般式 (II)

【0011】

【化4】



【0012】

で示されるリペロマイシン A 誘導体またはその薬学的に許容される塩。

(4) (3) に記載のリペロマイシン A 誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とする高カルシウム血症または骨疾患治療剤。

【0013】

【発明の実施の形態】

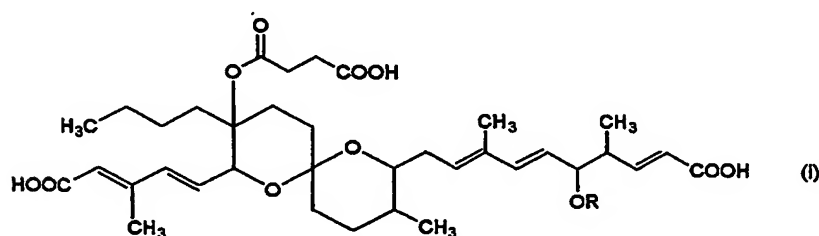
以下、本発明を詳細に説明する。

(1) 本発明の治療剤に用いられるリペロマイシン A 誘導体

本発明の治療剤に用いられるリペロマイシン A 誘導体は、下記一般式 (I) で表される化合物およびその薬学的に許容される塩である。

【0014】

【化5】



【0015】

式中、Rは酸性条件下で脱離し得る水酸基の保護基を示す。

本発明において「水酸基の保護基」とは、水酸基を一時的に種々の反応から保護することができる原子団であれば特に限定されない。

また、本発明において「酸性条件下で脱離し得る」とは、保護基が酸性条件下で脱離可能であって、中性条件下においては酸性条件下における場合と比較してより脱離しにくいことを意味する。好ましくは、「酸性条件下で脱離し得る」とは、成熟破骨細胞などにより作り出される酸性環境下において保護基が脱離可能であって、通常の細胞が存在する中性環境下においては保護基がより脱離しにくいことを意味する。なお、「中性条件下において保護基がより脱離しにくい」とは、好ましくは中性条件下において保護基が安定でほとんど脱離しないことを意味する。具体的には、「酸性条件下で脱離し得る」とは、例えばpH4.0以下の酸性条件下において保護基が脱離し、pH7.0の中性条件下において保護基がほとんど脱離しないことを意味する。本発明に用いることができる「酸性条件下で脱離し得る」保護基は、例えば次のような方法で選択することができる。試験する保護基で5位の水酸基を保護したリペロマイシンA誘導体を、成熟破骨細胞などの酸性環境を作り出す細胞、および破骨細胞前駆細胞などの中性環境下に存在する細胞に投与し、生存細胞数の計測またはMTT法などにより細胞死誘導活性を測定し、酸性環境を作り出す細胞に対し、中性環境に存在する細胞よりもより高い細胞死誘導活性を示す誘導体を選択する。

【0016】

Rとしては、アシル基、アルキル基またはシリル基などを用いることができ、好ましくはアシル基またはシリル基を用いることができる。より具体的には、アシル基としてはホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ブチリル基、イソブチリル基、バレリル基、イソバレリル基、ヘキサノイル基などのアルキルカルボニル基など、アルキル基としてはメチル基、エチル基などのアルキル基；テトラヒドロピラニル基；エトキシエチル基、メトキシメチル基などのアルコキシアルキル基；ベンジル基などのアリールアルキル（アラルキル）基；メチルチオメチル基などのアルキルチオアルキル基など、シリル基としてはtert-ブチルジフ

エニルシリル基、tert-ブチルジメチルシリル基、トリエチルシリル基、トリイソプロピルシリル基、ジメチルエチルシリル基などを用いることができるが、これらに限定されることはない。

【0017】

本発明の治療剤に用いられるリベロマイシンA誘導体の好ましい一形態は、一般式(I)において、Rがtert-ブチルジメチルシリル基であるリベロマイシンA誘導体である。

本発明の治療剤に用いられるリベロマイシンA誘導体の別の好ましい一形態は、一般式(I)において、Rがアセチル基である新規リベロマイシンA誘導体である。

【0018】

本発明の治療剤においてはリベロマイシンA誘導体の薬学的に許容される塩も用いることができる。薬学的に許容される塩としては、例えば、塩酸塩、硫酸塩などの鉱酸塩；又はp-トルエンスルホン酸塩などの有機酸塩；ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩などの金属塩；アンモニウム塩；メチルアンモニウム塩などの有機アンモニウム塩；グリシン塩などのアミノ酸塩などを挙げることができるが、これらに限定されることはない。

【0019】

一般式(I)で表されるリベロマイシンA誘導体は複数の不斉炭素有しており、また置換基の種類によりさらに1個以上の不斉炭素有する場合がある。これらの不斉炭素に基づく光学異性体またはジアステレオマーなどの立体異性体が存在するが、本発明においては純粋な形態の立体異性体のほか、任意の立体異性体の混合物またはラセミ体などを用いることができる。また、リベロマイシンA誘導体にはオレフィン性の二重結合を有する場合も存在し、二重結合に基づく幾何異性体が存在するが、純粋な形態の幾何異性体のほか、任意の幾何異性体の混合物も本発明に用いることができる。本発明に用いられるリベロマイシンA誘導体は任意の結晶形として存在することができ、水和物または溶媒和物として存在する場合もある。これらの物質についても本発明に用いることができる。

【0020】

リペロマイシン A については公知方法及びそれに準ずる方法、例えば特公平 6-33271 号公報、及びジャーナル・オブ・アンチバイオティクス (Journal of Antibiotics Vol. 45, No. 9, pp1409-1413 (1992)) に記載されているリペロマイシン A 生産菌を培養し、リペロマイシン A を採取する方法により製造することができる。

【0021】

リペロマイシン A 誘導体については、本発明により本発明の治療剤として有効な活性を有する特定のリペロマイシン A 誘導体の構造が明らかにされたため、公知方法、例えばバイオオーガニック・アンド・メディシナル・ケミストリー・レターズ (Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters Vol. 12, pp3363-3366 (2002)) などに記載されているリペロマイシン A 誘導体の製造方法および通常の有機合成手法により製造することができる。なお、本発明の実施例には、本発明の治療剤として用いられる化合物の合成手法の具体例が記載されており、これらの合成手法も参照することができる。

【0022】

(2) 本発明の高カルシウム血症および骨疾患治療剤

本発明の治療剤は、特定のリペロマイシン A 誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とする薬剤であり、高カルシウム血症ならびに骨疾患の治療および／または予防のために使用することができる。骨疾患としては、骨量減少等の内因性骨疾患、及び物理的骨折等の外因性骨疾患の両方を含み、本発明の薬剤は上記骨疾患の治療及び／又は予防、あるいは上記骨疾患の治療期間の短縮のために使用することができる。内因性骨疾患としては、生体内での破骨細胞の過剰な形成及び／又は過剰な機能を伴う全ての疾患が包含される。骨疾患の具体例としては、骨粗鬆症、骨疾患関連性高カルシウム血症、骨ペーজেット病、破骨細胞腫、骨肉腫、関節症、慢性関節リウマチ、変形性骨炎、原発性甲状腺機能亢進症、骨減少症、骨多孔症、骨軟化症、外傷性骨折、疲労骨折、又は栄養障害、悪性腫瘍など他の疾病が原因による骨組織の脆弱化及び骨折などが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。本発明の治療剤は、ビタミン D₃、I L-1 または副甲状腺ホルモンにより誘導される高カルシウム血症および骨疾患の治療お

よび／または予防のために好適に用いられる。

【0023】

本発明の治療剤は、その使用目的にあわせて通常の薬学的手法に準じて投与方法、剤型、投与量を適宜決定することが可能である。例えば治療あるいは予防を目的としてヒトなどの動物に投与する場合は、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、丸剤、溶剤等として経口的に、または注射剤、坐剤、経皮吸収剤、吸入剤等として非経口的に投与することができる。また、本発明の治療剤に用いられるリベロマイシンA誘導体の有効量は通常の薬学的手法に準じてその剤型に適した賦形剤、結合剤、湿潤剤、崩壊剤、滑沢剤等の医薬用添加剤を必要に応じて混合し、医薬製剤とすることができる。注射剤の場合には、適当な担体とともに滅菌処理を行って製剤とする。投与量は疾患の状態、投与ルート、患者の年齢、または体重によっても異なり、最終的には医師の判断に委ねられるが、有効成分量として成人に経口で投与する場合、通常20～500 mg/kg/日、好ましくは50～300 mg/kg/日、非経口で投与する場合、通常10～300 mg/kg/日、好ましくは20～200 mg/kg/日を投与する。これを1回あるいは数回に分割して投与すればよい。

【0024】

本発明において、種々のリベロマイシンA誘導体を化学合成して、天然型リベロマイシンAに比べ、より特異的に細胞培養系における成熟破骨細胞の増殖を抑制できる化合物の開発を試みた。その結果、一般式(I)で表される特定のリベロマイシンA誘導体、特に一般式(I)におけるRがtert-ブチルジメチルシリル基である誘導体およびRがアセチル基である誘導体が、成熟破骨細胞に対して、天然型リベロマイシンAに比べ、さらに選択的な破骨細胞増殖抑制効果を示すことを新たに見いだした。すなわち、リベロマイシンAの5位の水酸基を適当な保護基で保護した誘導体は、中性pHでは殺細胞活性が微弱であるが、酸性環境を作り出す成熟破骨細胞に対しては強力なアポトーシス誘導活性を有するプロドラッグとして働く。これらの誘導体は、成熟破骨細胞以外の細胞に対するアポトーシス誘導活性がより低いといった優れた選択的破骨細胞アポトーシス誘導効果を示す。活性化した成熟破骨細胞に対する選択性が高いことから、これらのリベロマイシンA誘導体の副作用は軽微であると考えられる。

【0025】

また、甲状腺副甲状腺を摘出後、副甲状腺ホルモンを投与することにより高カルシウム血症を呈するラットに対して特定のリベロマイシンA誘導体の投与を行った結果、これらのリベロマイシンA誘導体は、副甲状腺ホルモンにより誘発される骨吸収作用を効果的に抑制できることが新たに判明した。また、これらのリベロマイシンA誘導体の骨吸収抑制効果は、従来のカルシトニンによるものに比べ持続時間の長いものであった。

【0026】

すなわち、本発明において、骨吸収を担う成熟破骨細胞に対して選択的細胞死を誘導できるリベロマイシンA誘導体が見出された。これらのリベロマイシンA誘導体は、副甲状腺ホルモンに起因する骨吸収を効果的に抑制でき、さらにその効果はカルシトニンなどに比べ持続性が向上していたことから、破骨細胞の過剰な活性化などにより誘発される骨疾患および高カルシウム血症などの効果的な治療剤として期待できる。

【0027】

【実施例】

以下に製造例および実施例をあげて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

種々のリベロマイシンA誘導体をバイオオーガニック・アンド・メディシナル・ケミストリー・レターズ (Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters Vol. 12, pp3363-3366 (2002)) および以下の製造例に記載の方法により合成した。なお、リベロマイシンAを特公平6-33271号公報に記載の方法により製造した。合成した29種類のリベロマイシンA誘導体を以下の表1および2に示す。なお、表1および2においてAcはアセチル基、allylはアリル基、Etはエチル基、TBSはtert-ブチルジメチルシリル基、Meはメチル基、MTMはメチルチオメチル基を示す。

【0028】

【表1】

表1

化合物	構造	化合物	構造
リベロ マイシ ンA		6	
1		7	
2		8	
3		9	
4		10	
5		11	
1390-II		12	
1392-II		18	

【0029】

【表 2】

表 2

化合物	構造	化合物	構造
14		21	
15		22	
16		23	
17		24	
18		25	
19		26	
20		27	

【0030】

以下に、化合物 2 および 27 の製造例を示す。

<製造例 1> 化合物 2 (C5-シリルエーテル体) の合成

C5-シリルエーテル体 (化合物 2) の合成

窒素雰囲気下、リベロマイシン A (6.6 mg, 0.01 mmol) の DMF (ジメチルホルムアミド) (300 μ l) 溶液に、室温でイミダゾール (13.6 mg, 0.2 mmol) および TBSCl (t-ブチルジメチルシリルクロライド) (18.0 mg, 0.12 mmol) を加えて一昼夜攪拌した。AcOEt (酢酸エチル) で希釈し、0 $^{\circ}$ C で有機層を 1N HCl、飽和食塩水で順次洗浄した。溶媒を留去後残渣に MeOH (メタノール) : THF (テ

トラヒドロフラン) : $\text{H}_2\text{O} = 3 : 2 : 1$ ($600 \mu\text{l}$) および K_2CO_3 (5 mg) を加え室温にて1時間攪拌した。溶媒を留去後、残渣を SiO_2 カラムクロマトグラフィー (n -ヘキサン : $\text{AcOEt} = 1 : 1$; 1% 酢酸) にて精製して、5-シリルエーテル (化合物2) (無色油状物 : 5.0 mg, 71%) を得た。

【0031】

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) $\delta = 0.06$ (s, 3H), 0.10 (s, 3H), 0.85 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.89 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H), 0.95 (s, 9H), 1.09 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.79 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.63 (m, 4H), 3.47 (ddd, $J = 10.0, 5.0, 5.0$ Hz, 1H), 4.26 (dd, $J = 6.9, 5.5$ Hz, 1H), 4.65 (brd, $J = 8.2$ Hz, 1H), 5.54 (dd, $J = 15.6, 6.9$ Hz, 1H), 5.63 (dd, $J = 7.3, 7.3$ Hz, 1H), 5.82 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 5.92 (brs, 1H), 6.27 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 6.46 (m, 2H), 7.03 (dd, $J = 15.6, 7.3$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) $\delta = 14.2, 14.4, 14.9, 18.1, 19.1, 23.9, 25.1, 25.5, 26.4, 28.6, 29.9, 31.1, 32.8, 33.3, 35.3, 36.9, 44.9, 76.2, 78.1, 79.9, 84.3, 97.0, 121.5, 122.3, 128.6, 129.4, 134.1, 135.6, 137.3, 139.3, 152.6, 153.5, 170.2, 170.2, 173.4, 175.9$.

【0032】

<製造例2> 化合物27 (C5-アセテート体) の合成

トリアリルエステルの合成

リベロマイシンA (66.1 mg, 0.1 mmol)、アリルアルコール ($700 \mu\text{l}$)、EDCI (1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド) (178.2 mg, 0.6 mmol) および DMAP (4-ジメチルアミノピリジン) (1.2mg, 0.01 mmol) を2 mlのテフロン (デュポン社登録商標) 製容器に入れ、さらに無水 CH_2Cl_2 で容器を満たし、室温1.5 GPaで2日間加圧した。反応液を Et_2O (ジエチルエーテル) で希釈し、2N $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{aq.}$ 、飽和食塩水で順次洗浄後、 MgSO_4 で乾燥し、溶媒を留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー (n -ヘキサン : $\text{Et}_2\text{O} = 2 : 1$) にて精製しトリアリルエステル (28.1 mg, 36%) を得た。

【0033】

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) $\delta = 0.76$ (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.82 (t, $J = 6.9$

Hz, 3H), 1.09 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.72 (s, 3H), 2.25 (brs, 3H), 2.66 (m, 4H), 3.41 (ddd, $J = 9.9, 4.8, 4.8$ Hz, 1H), 4.11 (dd, $J = 7.3, 5.6$ Hz, 1H), 4.61 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.62 (m, 6H), 5.24 (dd, $J = 10.4, 1.4$ Hz, 2H), 5.24 (dd, $J = 10.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.32 (ddd, $J = 17.2, 1.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.34 (ddd, $J = 17.2, 1.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.35 (ddd, $J = 17.2, 1.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.51 (dd, $J = 15.6, 7.3$ Hz, 1H), 5.54 (brt, $J = 7.3$ Hz, 1H), 5.86 (brs, 1H), 5.90 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 5.96 (m, 3H), 6.22 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 6.34 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 6.38 (dd, $J = 15.6, 8.0$ Hz, 1H), 7.04 (dd, $J = 16.0, 7.5$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) $\delta = 12.6, 14.1, 14.4, 14.7, 17.7, 22.9, 29.4, 30.2, 33.9, 34.2, 36.0, 42.7, 64.8, 65.1, 65.5, 74.9, 76.1, 78.2, 83.1, 95.8, 118.1, 118.1, 118.3, 119.7, 121.4, 126.0, 129.4, 132.0, 132.3, 132.3, 133.2, 133.8, 137.4, 137.7, 150.9, 151.9, 166.1, 166.4, 171.2, 171.8$

【0034】

5-アセトキシ体の合成

窒素雰囲気下、トリアリルエステル (8.5 mg, $10.9 \mu\text{mol}$) の CH_2Cl_2 溶液 (1 ml) にピリジン (4.4 μl , $54.4 \mu\text{mol}$)、DMAP (1 piece)、 Ac_2O (無水酢酸) (2.1 μl , $21.8 \mu\text{mol}$) を順次加え 0°C で3時間攪拌した。溶媒を留去後、残渣をカラムクロマトグラフィー (n -ヘキサン : $\text{AcOEt} = 3 : 1$) にて精製して、5-アセトキシトリアリルエステル (無色油状物 : 6.8 mg, 76%) を得た。

【0035】

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) $\delta = 0.74$ (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.83 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.08 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.70 (bs, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.28 (d, $J = 0.9$ Hz, 3H), 2.67 (m, 4H), 2.77 (m, 4H), 3.43 (dt, $J = 10.1, 3.7$ Hz, 1H), 4.60 (ddd, $J = 6.0, 1.4, 1.4$ Hz, 2H), 4.62 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.64 (ddd, $J = 6.0, 1.4, 1.4$ Hz, 2H), 4.65 (ddd, $J = 6.0, 1.4, 1.4$ Hz, 2H), 5.24 (ddt, $J = 10.5, 1.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.25 (ddt, $J = 10.5, 1.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.25 (ddt, $J = 10.5, 1.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.27 (dd, $J = 8.3, 5.5$ Hz, 1H), 5.25 (ddt, $J = 10.5, 1.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.27 (dd, $J = 8.3, 5.5$ Hz, 1H).

z, 1H), 5.32 (ddt, $J = 17.2, 1.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.34 (ddt, $J = 17.2, 1.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.34 (ddt, $J = 17.2, 1.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.38 (dd, $J = 15.6, 8.3$ Hz, 1H), 5.64 (brt, $J = 6.9$ Hz, 1H), 5.86 (brs, 1H), 5.87 (dd, $J = 15.6, 0.9$ Hz, 1H), 6.30 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 6.33 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 6.38 (dd, $J = 15.6, 8.7$ Hz, 1H), 6.99 (dd, $J = 15.6, 7.3$ Hz, 1H), 7.03 (dd, $J = 15.6, 7.3$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) $\delta = 12.7, 14.0, 14.4, 15.1, 17.7, 21.4, 22.8, 29.3, 30.2, 35.8, 40.6, 64.8, 65.2, 65.5, 74.5, 77.6, 78.2, 83.2, 95.9, 118.2, 118.3, 118.5, 120.0, 121.0, 121.9, 130.0, 132.1, 132.3, 132.5, 133.3, 133.9, 137.8, 139.8, 149.6, 151.8, 166.2, 166.6, 170.2, 171.4, 172.0$.

【0036】

窒素雰囲気下、5-アセトキシトリアリルエステル (5.8 mg, 0.07 μmol) の CH_2Cl_2 (1 ml) 溶液に 0°C で $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (テトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム) (0.41 mg, 0.35 μmol)、 Ph_3P (トリフェニルホスフィン) (0.19 mg, 0.7 μmol)、ピロリジン (7.3 μl , 0.086 mmol) を順次加えた後、3時間攪拌した。反応溶液を EtOAc で希釈し、2N Na_2CO_3 で抽出し、水層を 2N HCl で中性にして EtOAc で抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥し溶媒を留去して、5-アセトキシ体 (4.2 mg, 85 %) を得た。

【0037】

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) $\delta = 0.83$ (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.89 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.13 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.78 (brs, 3H), 2.11 (s, 1H), 2.30 (d, $J = 1.4$ Hz, 3H), 2.63 (m, 4H), 3.49 (dt, $J = 10.1, 5.5$ Hz, 1H), 4.66 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 5.32 (dd, $J = 7.3, 6.0$ Hz, 1H), 5.51 (dd, $J = 15.6, 7.8$ Hz, 1H), 5.69 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 5.88 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 5.92 (brs, 1H), 6.33 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 6.46 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 6.48 (dd, $J = 15.6, 6.9$ Hz, 1H), 6.95 (dd, $J = 15.6, 7.3$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) $\delta = 12.8, 14.2, 14.7, 15.2, 18.0, 23.8, 25.1, 25.5, 28.7, 29.9, 31.1, 32.8, 32.9, 34.7, 35.2, 36.9, 41.8, 76.2, 78.8,$

79.8, 84.3, 97.1, 121.6, 122.9, 123.4, 130.9, 134.1, 135.3, 139.3, 140.3, 151.0, 152.5, 170.2, 170.2, 173.4, 176.0.

【0038】

<実施例1> リペロマイシンAおよびリペロマイシンA誘導体の成熟破骨細胞に対する細胞死誘導活性の検討

骨吸収の要因である成熟破骨細胞の増殖に対するリペロマイシンAおよびその誘導体の阻害効果を検討した。

上記のようにして合成した29種類のリペロマイシンA誘導体を用いて、成熟破骨細胞、及びマウス由来未分化マクロファージ様細胞(RAW264細胞)に対する細胞死誘導活性の試験を行った。マウスマクロファージ系細胞株であるRAW264細胞を10% FBS- α MEM (Gibco BRL社製)に懸濁し、96穴プレートに12000細胞/100 μ l 播種し、1時間培養後、RANKL (100 μ g/ml)、PD98059 (40 μ M)を含む培地を100 μ l 加え(終濃度 RANKL 50 μ g/ml、PD98059 20 μ M)、4日間培養して成熟破骨細胞へ分化させた(J. Biol. Chem. Vol. 277, pp47366-47372 (2002))。なお、培養2日目に培地を半量交換した。成熟破骨細胞へ分化させたプレートから培地を100 μ l/ウェルずつ除去し、2倍濃度のリペロマイシンA誘導体を含む培地を100 μ l 加えて24時間培養後、TRAP (tartarateresistant acid phosphatase: 酒石酸耐性酸フォスファターゼ)染色を行い、残存する多核の破骨細胞の数を計測し、細胞死(アポトーシス)誘導活性(ED₅₀値)を計算した。アポトーシス誘導活性は、10 μ M Hoechst 33258で10分間染色し核の凝集を観察確認した。

【0039】

未分化RAW264細胞に対する細胞死誘導活性はMTT法(J. Immunol. Methods, Vol. 65, pp55-63 (1983))により検討した。RAW264細胞を96穴プレートに4000細胞/100 μ l播種し、24時間培養後、3倍濃度の薬物を含む培地50 μ lを加え、24時間培養して細胞死誘導活性を検討した。細胞死誘導活性を測定する2時間前に0.5% MTT-PBS (リン酸緩衝食塩水)15 μ lを加えて培養した後、培養液を除去した残渣をDMSO (ジメチルスルフォキシド)100 μ lに溶解し、570 nm (レファレンス波長 630 nm)の吸光度を測定し、細胞死誘導活性のED₅₀値を

計算した。

【0040】

試験の結果、表3に示すように、リペロマイシンAによる成熟破骨細胞に対する細胞死誘導活性のED₅₀は0.18 μ Mであるのに対してRAW264細胞に対する細胞死誘導活性のED₅₀は24 μ Mであり、成熟破骨細胞に高い選択性を持って作用する。これに対し、リペロマイシンA誘導体（化合物2および化合物27）は、破骨細胞の前駆細胞RAW264に対しては比較的高濃度においても増殖阻害作用を示さず、成熟破骨細胞に対して選択的なアポトーシス誘導効果を示した。リペロマイシンA誘導体2（C5-シリルエーテル体）、27（C5-アセテート体）は5位の水酸基の修飾体であるが、成熟破骨細胞に対して選択的に細胞死を誘導した。成熟破骨細胞によるプロトン分泌によってその周辺は酸性環境になるが、酸性環境では加水分解により修飾基が脱離して水酸基に戻ったために活性を示した可能性がある。リペロマイシンA誘導体（化合物2および化合物27）は、未分化RAW264細胞に対しては比較的高濃度においても増殖阻害作用を示さず、成熟破骨細胞に対して選択的なアポトーシス誘導効果を示すことから、プロドラッグとして有望であることが示された。

【0041】

【表 3】

表 3 成熟破骨細胞および未分化 RAW264 細胞に対する細胞死誘導活性の ED₅₀ (μM)

	成熟破骨細胞	RAW264 細胞		成熟破骨細胞	RAW264 細胞
	細胞数	MTT		細胞数	MTT
リペロマイシン A	0.18	24	1 3	2.5	7.6
1	>45	182	1 4	8.8	25
2	6.6	89	1 5	5.8	25
3	>6.0	>6.0	1 6	26	>142
4	>5.6	>5.6	1 7	>61	n. d.
5	>47	>157	1 8	87	44
1 3 9 0-II	>5.2	n. d.	1 9	86	>50
1 3 9 2-II	>52	>174	2 0	>45	>150
6	>45	>149	2 1	7.3	21
7	>51	>169	2 2	9.3	53
8	31	100	2 3	>17	>17
9	>48	61	2 4	>15	>15
1 0	>54	>178	2 5	>17	>17
1 1	41	>178	2 6	>44	>148
1 2	0.6	1.0	2 7	1.8	49

n. d.: データなし

【0042】

<実施例 2> マウス長管骨からの⁴⁵Ca 遊離抑制効果の検討

副甲状腺ホルモン (PTH) による骨吸収促進に対するリペロマイシン A 誘導体の効果を測定した。

19日目の妊娠ラットに [⁴⁵Ca]CaCl₂ を皮下注射し、胎児の骨を標識した。24時間後、前肢長管骨を摘出した。摘出した長管骨は 15% 加熱非活性化ウマ血清と 10 U/ml ペニシリンを含んだ DMEM (ダルベッコ改変イーグル培地) を培地として使用し、骨吸収因子 (PTH 10⁻⁸M, IL-1 0.3 ng/ml、ビタミン D₃ 10⁻⁸M) 及びリペロマイシン A 誘導体と共に 72 時間培養した。培養後、0.1N HCl により骨のカルシウムを溶かし出した溶液と培養液の ⁴⁵Ca 放射活性を液体シンチレーションカウンターで計測した。全カルシウム量に対する培養液中に放出されたカルシウム量の比 (骨吸収活性 (%)) を指標とした PTH による骨吸収促進に対するリペロマイシン

A誘導体の効果を検討した。

【0043】

【数1】

骨吸収活性 (%) = $100 \times \text{培養液中への } ^{45}\text{Ca 放出量} / (\text{培養液中への } ^{45}\text{Ca 放出量} + \text{骨中の } ^{45}\text{Ca 残存量})$

【0044】

リベロマイシンA誘導体（化合物2、および化合物27）は、 10^{-8}M 、 10^{-7}M 及び 10^{-6}M でPTHにより誘発された骨吸収を濃度依存的に抑制した。また、ビタミンD₃やIL-1による骨吸収をも抑制できた。

【0045】

<実施例3> リベロマイシンA誘導体の副甲状腺ホルモン(PTH)による骨吸収阻害効果の検討

生体内で最も重要な骨吸収因子として機能している副甲状腺ホルモン(PTH)による骨吸収に対するリベロマイシンA誘導体の効果を検討した。

【0046】

リベロマイシンA誘導体の骨吸収阻害効果は、骨吸収作用により血中に放出される血清カルシウムの濃度測定により検定した。SD系のラットに甲状腺副甲状腺摘出手術(TPTX)を施し、翌日血清カルシウムの低下を確認した後、副甲状腺ホルモン(PTH)を持続注入して、骨吸収の亢進により高カルシウム血症を呈するラットを作製した。

PTH注入開始後12時間にリベロマイシンA誘導体(10 mg/50 μ l EtOH (エタノール), 100 g bw)またはリベロマイシンA誘導体のナトリウム塩(10 mg/100 μ l 0.05 N NaOH, 100 g bw)を投与して経時的に24時間まで血清カルシウムの測定を行った。

【0047】

SDラットにTPTXを施行すると血清カルシウム濃度が著しく低下した。TPTXラットにPTHを持続注入すると血清カルシウム濃度が上昇した。一方、リベロマイシンA誘導体(化合物2、および化合物27)(80 mg/Kg)を投与した個体においては、PTHによる血中カルシウム濃度の上昇は、有意に抑制された。リベロマイシンA誘導体は、PTHによる骨吸収を有意に抑制することが明らかとなった。ま

た、リペロマイシン A 誘導体を EtOH に溶解後投与した個体では、投与時に死亡する個体が見られたが、リペロマイシン A 誘導体をナトリウム塩として投与することにより死亡する個体は認められず、有効な骨吸収抑制作用が発揮された。

【0048】

一方、骨吸収抑制因子として臨床応用されているカルシトニンの骨吸収抑制作用についても検討して、リペロマイシン A 誘導体との相異について調べた。その結果、カルシトニンは骨吸収抑制作用が短いのに対して、リペロマイシン A 誘導体(化合物 2、および化合物 27)による骨吸収抑制作用は長時間維持された。

【0049】

【発明の効果】

本発明により、新規な高カルシウム血症および骨疾患治療剤、該治療剤の有効成分として用いられ得る新規化合物が提供される。

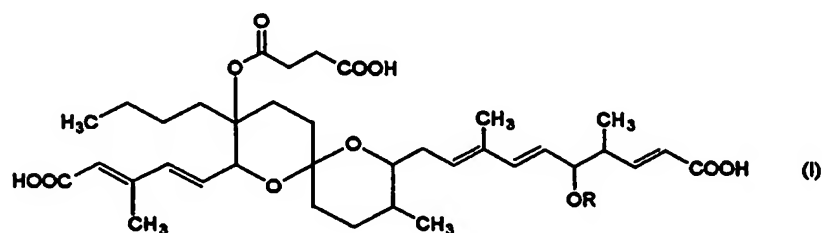
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 新規な高カルシウム血症および骨疾患治療剤、該治療剤の有効成分として用いられ得る化合物の提供を課題とする。

【解決手段】 下記一般式 (I)

【化 1】



(式中、R は酸性条件下で脱離し得る水酸基の保護基を示す。)

で表されるリペロマイシンA誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分とする高カルシウム血症または骨疾患治療剤。

【選択図】 なし

【書類名】 出願人名義変更届 (一般承継)
【提出日】 平成15年12月 1日
【あて先】 特許庁長官殿
【事件の表示】
【出願番号】 特願2003-197229
【承継人】
【識別番号】 503359821
【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢2番1号
【氏名又は名称】 独立行政法人理化学研究所
【承継人代理人】
【識別番号】 100075812
【弁理士】
【氏名又は名称】 吉武 賢次
【提出物件の目録】
【物件名】 権利の承継を証明する書面 1
【援用の表示】 平成15年11月20日提出の特許第1575167号外98件
にかか一般承継による特許権の移転登録申請書
【物件名】 登記簿謄本 1
【援用の表示】 平成15年11月20日提出の特許第1575167号外98件
にかか一般承継による特許権の移転登録申請書
【物件名】 委任状 1

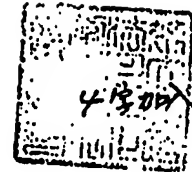
【物件名】

委任状

【添付書類】 1/1

(1) 0000000000

委 任 状



私は、

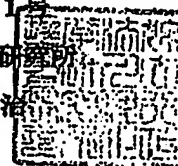
識別番号 100076812 弁理士 吉 武 賢 次 氏
を代理人と定めて下記事項を委任する。

1. 別紙目録に記載の特許出願に関する出願人名義変更届をする件
2. 上記各項の手続を処理するため復代理人を選任及び解任する件

以 上

平成 / 5 年 / / 月 / 3 日

住所又は居所 埼玉県和光市広沢2番1号
氏名又は名称 独立行政法人 理化学研究所
代 表 者 理事長 野 依 良 浩



目 録 (1)

- | | |
|-----------------------------------|--------------------|
| 1. 特願昭 63-235737 | 51. 特願平 07-327372 |
| 2. 特願平 05-044143 | 52. 特願平 08-000652 |
| 3. 特願平 05-127257 | 53. 特願平 08-026368 |
| 4. 特願平 05-127258 | 54. 特願平 08-030850 |
| 5. 特願平 05-213675 | 55. 特願平 08-041279 |
| 6. 特願平 05-306164 | 56. 特願平 08-045903 |
| 7. 特願平 05-328611 | 57. 特願平 08-051604 |
| 8. 特願平 05-336746 | 58. 特願平 08-065715 |
| 9. 特願平 06-035100 | 59. 特願平 08-070071 |
| 10. 特願平 06-061792 | 60. 特願平 08-105667 |
| 11. 特願平 06-061793 | 61. 特願平 08-107784 |
| 12. 特願平 06-069150 | 62. 特願平 08-116473 |
| 13. 特願平 06-097098 | 63. 特願平 08-123475 |
| 14. 特願平 06-111624 | 64. 特願平 08-127005 |
| 15. 特願平 06-121100 | 65. 特願平 08-131746 |
| 16. 特願平 06-145908 | 66. 特願平 08-132846 |
| 17. 特願平 06-158670 | 67. 特願平 08-132854 |
| 18. 特願平 06-158871 | 68. 特願平 08-142676 |
| 19. 特願平 06-165751 | 69. 特願平 08-158078 |
| 20. 特願平 06-165752 | 70. 特願平 08-167401 |
| 21. 特願平 06-181857 | 71. 特願平 08-196331 |
| 22. 特願平 06-235742 | 72. 特願平 08-197050 |
| 23. 特願平 06-238603 | 73. 特願平 08-197051 |
| 24. 特願平 06-244764 | 74. 特願平 08-211946 |
| 25. 特願平 06-248486 | 75. 特願平 08-216506 |
| 26. 特願平 06-252942 | 76. 特願平 08-216508 |
| 27. 特願平 06-268723 | 77. 特願平 08-222352 |
| 28. 特願平 06-293933 | 78. 特願平 08-231066 |
| 29. 特願平 06-301372 | 79. 特願平 08-233442 |
| 30. 特願平 06-323795 | 80. 特願平 08-236685 |
| 31. 特願平 06-324490 | 81. 特願平 08-251410 |
| 32. 特願平 06-507966 (不刊 2002-12420) | 82. 特願平 08-262051 |
| 33. 特願平 07-0007185 | 83. 特願平 08-302896 |
| 34. 特願平 07-069255 | 84. 特願平 08-308335 |
| 35. 特願平 07-082880 | 85. 特願平 08-308336 |
| 36. 特願平 07-083142 | 86. 特願平 08-311467 |
| 37. 特願平 07-117933 | 87. 特願平 08-315093 |
| 38. 特願平 07-133487 | 88. 特願平 08-317622 |
| 39. 特願平 07-205141 | 89. 特願平 08-320241 |
| 40. 特願平 07-214659 | 90. 特願平 08-506395 |
| 41. 特願平 07-217276 | 91. 特願平 09-002285 |
| 42. 特願平 07-236185 | 92. 特願平 09-010602 |
| 43. 特願平 07-240684 | 93. 特願平 09-019968 |
| 44. 特願平 07-249244 | 94. 特願平 09-019969 |
| 45. 特願平 07-259922 | 95. 特願平 09-019971 |
| 46. 特願平 07-282716 | 96. 特願平 09-024890 |
| 47. 特願平 07-302793 | 97. 特願平 09-028982 |
| 48. 特願平 07-306004 | 98. 特願平 09-046824 |
| 49. 特願平 07-311711 | 99. 特願平 09-049254 |
| 50. 特願平 07-311715 | 100. 特願平 09-053478 |

目録(2)

- | | |
|-------------------|-------------------|
| 101. 特願平09-054595 | 151. 特願平10-045434 |
| 102. 特願平09-056654 | 152. 特願平10-049499 |
| 103. 特願平09-057342 | 153. 特願平10-049867 |
| 104. 特願平09-058774 | 154. 特願平10-051489 |
| 105. 特願平09-067611 | 155. 特願平10-051490 |
| 106. 特願平09-074394 | 156. 特願平10-051491 |
| 107. 特願平09-080480 | 157. 特願平10-051492 |
| 108. 特願平09-082965 | 158. 特願平10-051493 |
| 109. 特願平09-091523 | 159. 特願平10-060740 |
| 110. 特願平09-091591 | 160. 特願平10-060741 |
| 111. 特願平09-091694 | 161. 特願平10-061895 |
| 112. 特願平09-096968 | 162. 特願平10-078139 |
| 113. 特願平09-099061 | 163. 特願平10-085207 |
| 114. 特願平09-099109 | 164. 特願平10-085208 |
| 115. 特願平09-104093 | 165. 特願平10-103083 |
| 116. 特願平09-119730 | 166. 特願平10-103115 |
| 117. 特願平09-129068 | 167. 特願平10-103671 |
| 118. 特願平09-134525 | 168. 特願平10-104093 |
| 119. 特願平09-147964 | 169. 特願平10-113493 |
| 120. 特願平09-155364 | 170. 特願平10-116378 |
| 121. 特願平09-159963 | 171. 特願平10-121456 |
| 122. 特願平09-163630 | 172. 特願平10-127520 |
| 123. 特願平09-163631 | 173. 特願平10-136198 |
| 124. 特願平09-171924 | 174. 特願平10-149603 |
| 125. 特願平09-175896 | 175. 特願平10-150494 |
| 126. 特願平09-180423 | 176. 特願平10-151245 |
| 127. 特願平09-189436 | 177. 特願平10-155838 |
| 128. 特願平09-198201 | 178. 特願平10-155841 |
| 129. 特願平09-208866 | 179. 特願平10-156104 |
| 130. 特願平09-221067 | 180. 特願平10-156108 |
| 131. 特願平09-228345 | 181. 特願平10-198313 |
| 132. 特願平09-230870 | 182. 特願平10-200280 |
| 133. 特願平09-253740 | 183. 特願平10-217132 |
| 134. 特願平09-256795 | 184. 特願平10-217180 |
| 135. 特願平09-271782 | 185. 特願平10-222837 |
| 136. 特願平09-291995 | 186. 特願平10-227939 |
| 137. 特願平09-297084 | 187. 特願平10-229591 |
| 138. 特願平09-307627 | 188. 特願平10-232520 |
| 139. 特願平09-308597 | 189. 特願平10-232590 |
| 140. 特願平09-309848 | 190. 特願平10-236009 |
| 141. 特願平09-327140 | 191. 特願平10-237485 |
| 142. 特願平09-327609 | 192. 特願平10-238144 |
| 143. 特願平09-328742 | 193. 特願平10-245293 |
| 144. 特願平09-360327 | 194. 特願平10-250598 |
| 145. 特願平10-002030 | 195. 特願平10-250611 |
| 146. 特願平10-010471 | 196. 特願平10-252128 |
| 147. 特願平10-014152 | 197. 特願平10-260347 |
| 148. 特願平10-015690 | 198. 特願平10-260416 |
| 149. 特願平10-024892 | 199. 特願平10-268791 |
| 150. 特願平10-043335 | 200. 特願平10-269859 |

目 録 (3)

- | | |
|-------------------|--------------------|
| 201. 特願平10-272529 | 251. 特願平11-135137 |
| 202. 特願平10-280351 | 252. 特願平11-135482 |
| 203. 特願平10-308533 | 253. 特願平11-143429 |
| 204. 特願平10-309765 | 254. 特願平11-144005 |
| 205. 特願平10-311673 | 255. 特願平11-147097 |
| 206. 特願平10-311674 | 256. 特願平11-151099 |
| 207. 特願平10-311675 | 257. 特願平11-168247 |
| 208. 特願平10-314856 | 258. 特願平11-173839 |
| 209. 特願平10-315751 | 259. 特願平11-179278 |
| 210. 特願平10-338896 | 260. 特願平11-186052 |
| 211. 特願平10-338897 | 261. 特願平11-193235 |
| 212. 特願平10-338898 | 262. 特願平11-224269 |
| 213. 特願平10-338899 | 263. 特願平11-225060 |
| 214. 特願平10-352428 | 264. 特願平11-225832 |
| 215. 特願平10-354665 | 265. 特願平11-225839 |
| 216. 特願平10-363297 | 266. 特願平11-226176 |
| 217. 特願平10-363329 | 267. 特願平11-234800 |
| 218. 特願平10-506788 | 268. 特願平11-240325 |
| 219. 特願平10-532832 | 269. 特願平11-240910 |
| 220. 特願平10-535583 | 270. 特願平11-241737 |
| 221. 特願平11-008183 | 271. 特願平11-242438 |
| 222. 特願平11-013380 | 272. 特願平11-242490 |
| 223. 特願平11-015176 | 273. 特願平11-253851 |
| 224. 特願平11-031724 | 274. 特願平11-260947 |
| 225. 特願平11-035776 | 275. 特願平11-277759 |
| 226. 特願平11-046372 | 276. 特願平11-278976 |
| 227. 特願平11-055835 | 277. 特願平11-279324 |
| 228. 特願平11-055867 | 278. 特願平11-281632 |
| 229. 特願平11-055930 | 279. 特願平11-303976 |
| 230. 特願平11-056957 | 280. 特願平11-309616 |
| 231. 特願平11-057381 | 281. 特願平11-315036 |
| 232. 特願平11-057749 | 282. 特願平11-321282 |
| 233. 特願平11-058103 | 283. 特願平11-336079 |
| 234. 特願平11-061079 | 284. 特願平11-346467 |
| 235. 特願平11-061080 | 285. 特願平11-354563 |
| 236. 特願平11-064193 | 286. 特願平11-360274 |
| 237. 特願平11-064372 | 287. 特願平11-365899 |
| 238. 特願平11-064506 | 288. 特願平11-373483 |
| 239. 特願平11-065136 | 289. 特願平11-510791 |
| 240. 特願平11-074385 | 290. 特願平11-515324 |
| 241. 特願平11-081225 | 291. 特願2000-001783 |
| 242. 特願平11-090383 | 292. 特願2000-005221 |
| 243. 特願平11-091875 | 293. 特願2000-009363 |
| 244. 特願平11-103231 | 294. 特願2000-010516 |
| 245. 特願平11-104509 | 295. 特願2000-011147 |
| 246. 特願平11-106920 | 296. 特願2000-011623 |
| 247. 特願平11-124187 | 297. 特願2000-016518 |
| 248. 特願平11-130771 | 298. 特願2000-016622 |
| 249. 特願平11-130814 | 299. 特願2000-017112 |
| 250. 特願平11-130815 | 300. 特願2000-018612 |

目 録 (4)

- | | |
|---------------------|---------------------|
| 301. 特願 2000-019195 | 351. 特願 2000-141763 |
| 302. 特願 2000-019528 | 352. 特願 2000-148843 |
| 303. 特願 2000-020067 | 353. 特願 2000-152455 |
| 304. 特願 2000-030321 | 354. 特願 2000-152469 |
| 305. 特願 2000-034109 | 355. 特願 2000-154484 |
| 306. 特願 2000-039082 | 356. 特願 2000-161895 |
| 307. 特願 2000-040355 | 357. 特願 2000-163122 |
| 308. 特願 2000-041927 | 358. 特願 2000-164584 |
| 309. 特願 2000-041929 | 359. 特願 2000-179723 |
| 310. 特願 2000-045318 | 360. 特願 2000-181281 |
| 311. 特願 2000-045855 | 361. 特願 2000-184259 |
| 312. 特願 2000-051488 | 362. 特願 2000-184295 |
| 313. 特願 2000-051650 | 363. 特願 2000-191007 |
| 314. 特願 2000-052040 | 364. 特願 2000-191265 |
| 315. 特願 2000-053707 | 365. 特願 2000-192332 |
| 316. 特願 2000-054949 | 366. 特願 2000-193817 |
| 317. 特願 2000-056093 | 367. 特願 2000-195384 |
| 318. 特願 2000-056879 | 368. 特願 2000-196991 |
| 319. 特願 2000-057564 | 369. 特願 2000-197022 |
| 320. 特願 2000-057565 | 370. 特願 2000-202801 |
| 321. 特願 2000-057566 | 371. 特願 2000-216457 |
| 322. 特願 2000-058133 | 372. 特願 2000-223714 |
| 323. 特願 2000-058282 | 373. 特願 2000-224970 |
| 324. 特願 2000-062316 | 374. 特願 2000-225486 |
| 325. 特願 2000-064142 | 375. 特願 2000-225864 |
| 326. 特願 2000-064209 | 376. 特願 2000-225978 |
| 327. 特願 2000-071119 | 377. 特願 2000-226361 |
| 328. 特願 2000-076122 | 378. 特願 2000-229191 |
| 329. 特願 2000-085874 | 379. 特願 2000-230551 |
| 330. 特願 2000-089078 | 380. 特願 2000-237165 |
| 331. 特願 2000-092693 | 381. 特願 2000-237166 |
| 332. 特願 2000-100395 | 382. 特願 2000-237533 |
| 333. 特願 2000-105139 | 383. 特願 2000-246309 |
| 334. 特願 2000-105917 | 384. 特願 2000-248331 |
| 335. 特願 2000-107160 | 385. 特願 2000-249232 |
| 336. 特願 2000-108409 | 386. 特願 2000-256149 |
| 337. 特願 2000-109638 | 387. 特願 2000-257080 |
| 338. 特願 2000-109954 | 388. 特願 2000-257083 |
| 339. 特願 2000-118361 | 389. 特願 2000-260030 |
| 340. 特願 2000-120874 | 390. 特願 2000-261233 |
| 341. 特願 2000-123634 | 391. 特願 2000-264743 |
| 342. 特願 2000-128431 | 392. 特願 2000-265344 |
| 343. 特願 2000-131049 | 393. 特願 2000-278502 |
| 344. 特願 2000-131050 | 394. 特願 2000-279557 |
| 345. 特願 2000-131745 | 395. 特願 2000-292422 |
| 346. 特願 2000-134427 | 396. 特願 2000-292832 |
| 347. 特願 2000-136551 | 397. 特願 2000-299812 |
| 348. 特願 2000-136572 | 398. 特願 2000-307464 |
| 349. 特願 2000-138977 | 399. 特願 2000-308248 |
| 350. 特願 2000-141566 | 400. 特願 2000-309581 |

目録(5)

401. 特願2000-319775	451. 特願2001-071435
402. 特願2000-322058	452. 特願2001-072650
403. 特願2000-333311	453. 特願2001-072668
404. 特願2000-334686	454. 特願2001-072963
405. 特願2000-334969	455. 特願2001-073028
406. 特願2000-343912	456. 特願2001-074964
407. 特願2000-347398	457. 特願2001-074965
408. 特願2000-347865	458. 特願2001-077257
409. 特願2000-358121	459. 特願2001-078671
410. 特願2000-368566	460. 特願2001-084173
411. 特願2000-374626	461. 特願2001-089541
412. 特願2000-375090	462. 特願2001-091911
413. 特願2000-378421	463. 特願2001-092337
414. 特願2000-378942	464. 特願2001-116171
415. 特願2000-378950	465. 特願2001-124294
416. 特願2000-384771	466. 特願2001-124452
417. 特願2000-387016	467. 特願2001-127575
418. 特願2000-394815	468. 特願2001-127576
419. 特願2000-396445	469. 特願2001-135357
420. 特願2000-399940	470. 特願2001-137087
421. 特願2000-400338	471. 特願2001-138103
422. 特願2000-401110	472. 特願2001-142583
423. 特願2000-401245	473. 特願2001-147081
424. 特願2000-401258	474. 特願2001-152364
425. 特願2000-503838	475. 特願2001-152379
426. 特願2000-571733	476. 特願2001-153447
427. 特願2000-571943	477. 特願2001-155572
428. 特願2000-602588	478. 特願2001-163740
429. 特願2000-602900	479. 特願2001-164819
430. 特願2000-618709	480. 特願2001-164997
431. 特願2001-003476	481. 特願2001-165133
432. 特願2001-005615	482. 特願2001-167910
433. 特願2001-007979	483. 特願2001-168784
434. 特願2001-016626	484. 特願2001-171705
435. 特願2001-025030	485. 特願2001-173331
436. 特願2001-037141	486. 特願2001-174421
437. 特願2001-037147	487. 特願2001-174553
438. 特願2001-042501	488. 特願2001-175898
439. 特願2001-044933	489. 特願2001-178169
440. 特願2001-047762	490. 特願2001-179858
441. 特願2001-050845	491. 特願2001-180552
442. 特願2001-053550	492. 特願2001-180554
443. 特願2001-054717	493. 特願2001-187735
444. 特願2001-059115	494. 特願2001-197185
445. 特願2001-059892	495. 特願2001-197897
446. 特願2001-060848	496. 特願2001-200854
447. 特願2001-062703	497. 特願2001-201356
448. 特願2001-065799	498. 特願2001-202971
449. 特願2001-065917	499. 特願2001-203089
450. 特願2001-068285	500. 特願2001-206505

目録(6)

501.	特願2001-208522	551.	特願2001-326387
502.	特願2001-208523	552.	特願2001-326872
503.	特願2001-209305	553.	特願2001-327853
504.	特願2001-212947	554.	特願2001-329023
505.	特願2001-218505	555.	特願2001-332188
506.	特願2001-220219	556.	特願2001-337487
507.	特願2001-228176	557.	特願2001-339396
508.	特願2001-228287	558.	特願2001-339593
509.	特願2001-228374	559.	特願2001-346035
510.	特願2001-235412	560.	特願2001-347318
511.	特願2001-235747	561.	特願2001-347637
512.	特願2001-238951	562.	特願2001-349614
513.	特願2001-241023	563.	特願2001-351730
514.	特願2001-243930	564.	特願2001-352189
515.	特願2001-246642	565.	特願2001-353038
516.	特願2001-249978	566.	特願2001-358446
517.	特願2001-254377	567.	特願2001-358581
518.	特願2001-254378	568.	特願2001-369710
519.	特願2001-255589	569.	特願2001-374928
520.	特願2001-256576	570.	特願2001-376591
521.	特願2001-257188	571.	特願2001-378757
522.	特願2001-261158	572.	特願2001-380473
523.	特願2001-266004	573.	特願2001-382537
524.	特願2001-266069	574.	特願2001-382539
525.	特願2001-266454	575.	特願2001-382599
526.	特願2001-267194	576.	特願2001-385258
527.	特願2001-267379	577.	特願2001-385512
528.	特願2001-267863	578.	特願2001-385513
529.	特願2001-272877	579.	特願2001-385538
530.	特願2001-273964	580.	特願2001-388116
531.	特願2001-276053	581.	特願2001-390122
532.	特願2001-279406	582.	特願2001-392087
533.	特願2001-280319	583.	特願2001-392088
534.	特願2001-285145	584.	特願2001-395196
535.	特願2001-291059	585.	特願2001-396120
536.	特願2001-292223	586.	特願2001-397762
537.	特願2001-292224	587.	特願2001-397998
538.	特願2001-293000	588.	特願2001-401139
539.	特願2001-293054	589.	特願2001-515803
540.	特願2001-293936	590.	特願2001-523852
541.	特願2001-294013	591.	特願2001-557672
542.	特願2001-298140	592.	特願2002-000993
543.	特願2001-298402	593.	特願2002-005746
544.	特願2001-307340	594.	特願2002-010344
545.	特願2001-309501	595.	特願2002-011558
546.	特願2001-309508	596.	特願2002-019752
547.	特願2001-309984	597.	特願2002-020329
548.	特願2001-310554	598.	特願2002-022499
549.	特願2001-313430	599.	特願2002-028046
550.	特願2001-319360	600.	特願2002-028109

目 録 (7)

601. 特願 2002-040151	651. 特願 2002-162157
602. 特願 2002-042829	652. 特願 2002-162211
603. 特願 2002-044340	653. 特願 2002-162365
604. 特願 2002-044640	654. 特願 2002-167759
605. 特願 2002-046188	655. 特願 2002-170068
606. 特願 2002-047799	656. 特願 2002-170902
607. 特願 2002-053190	657. 特願 2002-176435
608. 特願 2002-053575	658. 特願 2002-176583
609. 特願 2002-055272	659. 特願 2002-183722
610. 特願 2002-057253	660. 特願 2002-185966
611. 特願 2002-057565	661. 特願 2002-187362
612. 特願 2002-057935	662. 特願 2002-187957
613. 特願 2002-057963	663. 特願 2002-188281
614. 特願 2002-066249	664. 特願 2002-189265
615. 特願 2002-070624	665. 特願 2002-194627
616. 特願 2002-070987	666. 特願 2002-197812
617. 特願 2002-071924	667. 特願 2002-201443
618. 特願 2002-074902	668. 特願 2002-201575
619. 特願 2002-078164	669. 特願 2002-202118
620. 特願 2002-081467	670. 特願 2002-205814
621. 特願 2002-081502	671. 特願 2002-205825
622. 特願 2002-083081	672. 特願 2002-217714
623. 特願 2002-084139	673. 特願 2002-221188
624. 特願 2002-085017	674. 特願 2002-225469
625. 特願 2002-087342	675. 特願 2002-225724
626. 特願 2002-094681	676. 特願 2002-226859
627. 特願 2002-095132	677. 特願 2002-227286
628. 特願 2002-095389	678. 特願 2002-229686
629. 特願 2002-100431	679. 特願 2002-230562
630. 特願 2002-106561	680. 特願 2002-235294
631. 特願 2002-119320	681. 特願 2002-235737
632. 特願 2002-120371	682. 特願 2002-236838
633. 特願 2002-123347	683. 特願 2002-237058
634. 特願 2002-128854	684. 特願 2002-237092
635. 特願 2002-133717	685. 特願 2002-248946
636. 特願 2002-133749	686. 特願 2002-253322
637. 特願 2002-134313	687. 特願 2002-253689
638. 特願 2002-141187	688. 特願 2002-253697
639. 特願 2002-141438	689. 特願 2002-254096
640. 特願 2002-142260	690. 特願 2002-257924
641. 特願 2002-149471	691. 特願 2002-260788
642. 特願 2002-149931	692. 特願 2002-261499
643. 特願 2002-150541	693. 特願 2002-264969
644. 特願 2002-154688	694. 特願 2002-267114
645. 特願 2002-154695	695. 特願 2002-268987
646. 特願 2002-154823	696. 特願 2002-270917
647. 特願 2002-158237	697. 特願 2002-271375
648. 特願 2002-158352	698. 特願 2002-271473
649. 特願 2002-160277	699. 特願 2002-273996
650. 特願 2002-162148	700. 特願 2002-274469

目録(8)

701.	特願2002-276051	751.	特願2003-012738
702.	特願2002-282746	752.	特願2003-012774
703.	特願2002-286487	753.	特願2003-015968
704.	特願2002-289209	754.	特願2003-016044
705.	特願2002-295332	755.	特願2003-016940
706.	特願2002-296911	756.	特願2003-017397
707.	特願2002-299429	757.	特願2003-021499
708.	特願2002-301875	758.	特願2003-024347
709.	特願2002-303838	759.	特願2003-024620
710.	特願2002-312131	760.	特願2003-025277
711.	特願2002-320102	761.	特願2003-027647
712.	特願2002-320704	762.	特願2003-027648
713.	特願2002-325909	763.	特願2003-031882
714.	特願2002-325920	764.	特願2003-032932
715.	特願2002-332232	765.	特願2003-038206
716.	特願2002-339344	766.	特願2003-040642
717.	特願2002-339392	767.	特願2003-043961
718.	特願2002-339541	768.	特願2003-050153
719.	特願2002-339551	769.	特願2003-050446
720.	特願2002-341195	770.	特願2003-052520
721.	特願2002-343807	771.	特願2003-052602
722.	特願2002-344279	772.	特願2003-052613
723.	特願2002-345597	773.	特願2003-052877
724.	特願2002-347401	774.	特願2003-053023
725.	特願2002-348760	775.	特願2003-054182
726.	特願2002-349042	776.	特願2003-054798
727.	特願2002-354594	777.	特願2003-054799
728.	特願2002-357768	778.	特願2003-054846
729.	特願2002-357900	779.	特願2003-054847
730.	特願2002-358019	780.	特願2003-054848
731.	特願2002-358967	781.	特願2003-054849
732.	特願2002-360972	782.	特願2003-055452
733.	特願2002-360975	783.	特願2003-056628
734.	特願2002-368112	784.	特願2003-061426
735.	特願2002-376555	785.	特願2003-063532
736.	特願2002-376774	786.	特願2003-065013
737.	特願2002-376831	787.	特願2003-071028
738.	特願2002-379214	788.	特願2003-072979
739.	特願2002-380624	789.	特願2003-074168
740.	特願2002-381888	790.	特願2003-076107
741.	特願2002-382170	791.	特願2003-078999
742.	特願2002-383870	792.	特願2003-079598
743.	特願2002-521644	793.	特願2003-079613
744.	特願2002-532458	794.	特願2003-082466
745.	特願2002-546564	795.	特願2003-083318
746.	特願2002-548185	796.	特願2003-083433
747.	特願2002-570743	797.	特願2003-083480
748.	特願2003-003450	798.	特願2003-085193
749.	特願2003-012550	799.	特願2003-089026
750.	特願2003-012694	800.	特願2003-090331

目録(9)

- | | |
|--------------------|--------------------|
| 801. 特願2003-091446 | 851. 特願2003-127135 |
| 802. 特願2003-092654 | 852. 特願2003-127150 |
| 803. 特願2003-093642 | 853. 特願2003-128818 |
| 804. 特願2003-094272 | 854. 特願2003-128897 |
| 805. 特願2003-094719 | 855. 特願2003-129347 |
| 806. 特願2003-095770 | 856. 特願2003-131313 |
| 807. 特願2003-095884 | 857. 特願2003-132280 |
| 808. 特願2003-095885 | 858. 特願2003-132605 |
| 809. 特願2003-095886 | 859. 特願2003-132806 |
| 810. 特願2003-095904 | 860. 特願2003-135591 |
| 811. 特願2003-097283 | 861. 特願2003-136445 |
| 812. 特願2003-097327 | 862. 特願2003-139397 |
| 813. 特願2003-101917 | 863. 特願2003-140684 |
| 814. 特願2003-104928 | 864. 特願2003-142303 |
| 815. 特願2003-105362 | 865. 特願2003-143932 |
| 816. 特願2003-107267 | 866. 特願2003-145221 |
| 817. 特願2003-107268 | 867. 特願2003-145390 |
| 818. 特願2003-107647 | 868. 特願2003-147820 |
| 819. 特願2003-107885 | 869. 特願2003-150690 |
| 820. 特願2003-109575 | 870. 特願2003-153014 |
| 821. 特願2003-115750 | 871. 特願2003-153015 |
| 822. 特願2003-115793 | 872. 特願2003-153016 |
| 823. 特願2003-115847 | 873. 特願2003-153985 |
| 824. 特願2003-115888 | 874. 特願2003-154009 |
| 825. 特願2003-116232 | 875. 特願2003-154841 |
| 826. 特願2003-116895 | 876. 特願2003-155397 |
| 827. 特願2003-118161 | 877. 特願2003-155407 |
| 828. 特願2003-118186 | 878. 特願2003-158017 |
| 829. 特願2003-119749 | 879. 特願2003-161005 |
| 830. 特願2003-119930 | 880. 特願2003-164126 |
| 831. 特願2003-120934 | 881. 特願2003-170051 |
| 832. 特願2003-121233 | 882. 特願2003-170324 |
| 833. 特願2003-121261 | 883. 特願2003-170325 |
| 834. 特願2003-121273 | 884. 特願2003-170326 |
| 835. 特願2003-121780 | 885. 特願2003-170327 |
| 836. 特願2003-122245 | 886. 特願2003-170328 |
| 837. 特願2003-123984 | 887. 特願2003-170329 |
| 838. 特願2003-124654 | 888. 特願2003-170330 |
| 839. 特願2003-124655 | 889. 特願2003-170573 |
| 840. 特願2003-124826 | 890. 特願2003-171576 |
| 841. 特願2003-124829 | 891. 特願2003-171619 |
| 842. 特願2003-124833 | 892. 特願2003-172898 |
| 843. 特願2003-124835 | 893. 特願2003-175819 |
| 844. 特願2003-125388 | 894. 特願2003-177298 |
| 845. 特願2003-125403 | 895. 特願2003-180198 |
| 846. 特願2003-125405 | 896. 特願2003-182958 |
| 847. 特願2003-127090 | 897. 特願2003-192763 |
| 848. 特願2003-127093 | 898. 特願2003-192775 |
| 849. 特願2003-127109 | 899. 特願2003-194837 |
| 850. 特願2003-127130 | 900. 特願2003-197229 |

目録(10)

- | | |
|--------------------|--------------------|
| 901. 特願2003-198340 | 951. 特願2003-338191 |
| 902. 特願2003-204075 | 952. 特願2003-339542 |
| 903. 特願2003-205349 | 953. 特願2003-340181 |
| 904. 特願2003-205710 | 954. 特願2003-342519 |
| 905. 特願2003-206548 | |
| 906. 特願2003-207698 | |
| 907. 特願2003-207771 | |
| 908. 特願2003-207772 | |
| 909. 特願2003-207850 | |
| 910. 特願2003-270049 | |
| 911. 特願2003-271473 | |
| 912. 特願2003-272421 | |
| 913. 特願2003-275055 | |
| 914. 特願2003-277958 | |
| 915. 特願2003-279130 | |
| 916. 特願2003-283972 | |
| 917. 特願2003-284055 | |
| 918. 特願2003-286640 | |
| 919. 特願2003-289138 | |
| 920. 特願2003-293912 | |
| 921. 特願2003-296474 | |
| 922. 特願2003-298558 | |
| 923. 特願2003-299424 | |
| 924. 特願2003-303979 | |
| 925. 特願2003-304452 | |
| 926. 特願2003-304453 | |
| 927. 特願2003-305689 | |
| 928. 特願2003-305844 | |
| 929. 特願2003-306137 | |
| 930. 特願2003-307564 | |
| 931. 特願2003-313014 | |
| 932. 特願2003-315355 | |
| 933. 特願2003-318801 | |
| 934. 特願2003-321497 | |
| 935. 特願2003-322948 | |
| 936. 特願2003-324974 | |
| 937. 特願2003-326510 | |
| 938. 特願2003-327645 | |
| 939. 特願2003-327907 | |
| 940. 特願2003-328600 | |
| 941. 特願2003-328840 | |
| 942. 特願2003-330418 | |
| 943. 特願2003-330569 | |
| 944. 特願2003-331848 | |
| 945. 特願2003-332756 | |
| 946. 特願2003-333798 | |
| 947. 特願2003-333932 | |
| 948. 特願2003-334036 | |
| 949. 特願2003-334083 | |
| 950. 特願2003-336365 | |

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-197229
受付番号	20308550893
書類名	出願人名義変更届（一般承継）
担当官	関 浩次 7475
作成日	平成16年 3月17日

<認定情報・付加情報>

【提出された物件の記事】

【提出物件名】	委任状（代理権を証明する書面）	1
---------	-----------------	---

特願 2 0 0 3 - 1 9 7 2 2 9

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 6 7 9 2]

1. 変更年月日	1 9 9 0 年 8 月 2 8 日
[変更理由]	新規登録
住 所	埼玉県和光市広沢 2 番 1 号
氏 名	理化学研究所

特願 2003-197229

出願人履歴情報

識別番号 [500433225]

1. 変更年月日 2000年 9月14日
[変更理由] 新規登録
住 所 愛知県名古屋市中区千代田5丁目14番22号
氏 名 学校法人三浦学園
2. 変更年月日 2004年 4月15日
[変更理由] 名称変更
住 所 愛知県名古屋市中区千代田5丁目14番22号
氏 名 学校法人中部大学

特願 2003-197229

出願人履歴情報

識別番号

[503359821]

1. 変更年月日

2003年10月 1日

[変更理由]

新規登録

住 所

埼玉県和光市広沢2番1号

氏 名

独立行政法人理化学研究所